

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

Expéditeur: L'ADMINISTRATION CHARGEÉE DE,
L'EXAMEN PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL

Destinataire:

DES TERMES, M.
BREVATOME
3, rue du Docteur Lancereaux
F-75008 Paris
FRANCE



PCT

NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU
RAPPORT D'EXAMEN PRÉLIMINAIRE
INTERNATIONAL
(règle 71.1 du PCT)

Date d'expédition (jour/mois/année)	19.12.2000
--	------------

Référence du dossier du déposant ou du mandataire
B 13117.3 EE

NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale No. PCT/FR99/02329	Date du dépôt international (jour/mois/année) 30/09/1999	Date de priorité (jour/mois/année) 02/10/1998
--	---	--

Déposant
COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE et al.

- Il est notifié au déposant que l'administration chargée de l'examen préliminaire international a établi le rapport d'examen préliminaire international pour la demande internationale et le lui transmet ci-joint, accompagné, le cas échéant, de ces annexes.
- Une copie du présent rapport et, le cas échéant, de ses annexes est transmise au Bureau international pour communication à tous les offices élus.
- Si tel ou tel office élu l'exige, le Bureau international établira une traduction en langue anglaise du rapport (à l'exclusion des annexes de celui-ci) et la transmettra aux offices intéressés.

4. RAPPEL

Pour aborder la phase nationale auprès de chaque office élu, le déposant doit accomplir certains actes (dépôt de traduction et paiement des taxes nationales) dans le délai de 30 mois à compter de la date de priorité (ou plus tard pour ce qui concerne certains offices) (article 39.1) (voir aussi le rappel envoyé par le Bureau international dans le formulaire PCT/IB/301).

Losrqu'une traduction de la demande internationale doit être remise à un office élu, elle doit comporter la traduction de toute annexe du rapport d'examen préliminaire international. Il appartient au déposant d'établir la traduction en question et de la remettre directement à chaque office élu intéressé.

Pour plus de précisions en ce qui concerne les délais applicables et les exigences des offices élus, voir le Volume II du Guide du déposant du PCT.

Nom et adresse postale de l'adminstration chargée de l'examen préliminaire international


Office européen des brevets
D-80298 Munich
Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Fonctionnaire autorisé

Emslander, S

Tél.+49 89 2399-8718



TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire B 13117.3 EE	POUR SUITE A DONNER	
	voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR99/02329	Date du dépôt international (<i>jour/mois/année</i>) 30/09/1999	Date de priorité (<i>jour/mois/année</i>) 02/10/1998
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C07K14/47		
Déposant COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE et al.		

<p>1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.</p> <p>2. Ce RAPPORT comprend 7 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).</p> <p>Ces annexes comprennent 16 feuilles.</p>	
<p>3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:</p> <ul style="list-style-type: none"> I <input checked="" type="checkbox"/> Base du rapport II <input type="checkbox"/> Priorité III <input type="checkbox"/> Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle IV <input type="checkbox"/> Absence d'unité de l'invention V <input checked="" type="checkbox"/> Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration VI <input type="checkbox"/> Certains documents cités VII <input checked="" type="checkbox"/> Irrégularités dans la demande internationale VIII <input checked="" type="checkbox"/> Observations relatives à la demande internationale 	

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 28/03/2000	Date d'achèvement du présent rapport 19.12.2000
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Chavanne, F N° de téléphone +49 89 2399 8399



**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/02329

I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées dans le présent rapport comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications (règles 70.16 et 70.17).*) :

Description, pages:

1-12,15-40	version initiale
13,14	reçue(s) avec télécopie du 27/11/2000

Revendications, N°:

1-39	reçue(s) avec télécopie du 27/11/2000
------	---------------------------------------

Dessins, feuilles:

1/10-10/10	version initiale
------------	------------------

2. En ce qui concerne la **langue**, tous les éléments indiqués ci-dessus étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue dans laquelle la demande internationale a été déposée, sauf indication contraire donnée sous ce point.

Ces éléments étaient à la disposition de l'administration ou lui ont été remis dans la langue suivante: , qui est :

- la langue d'une traduction remise aux fins de la recherche internationale (selon la règle 23.1(b)).
- la langue de publication de la demande internationale (selon la règle 48.3(b)).
- la langue de la traduction remise aux fins de l'examen préliminaire internationale (selon la règle 55.2 ou 55.3).

3. En ce qui concerne les **séquences de nucléotides ou d'acide aminés** divulguées dans la demande internationale (le cas échéant), l'examen préliminaire internationale a été effectué sur la base du listage des séquences :

- contenu dans la demande internationale, sous forme écrite.
- déposé avec la demande internationale, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- remis ultérieurement à l'administration, sous forme écrite.
- remis ultérieurement à l'administration, sous forme déchiffrable par ordinateur.
- La déclaration, selon laquelle le listage des séquences par écrit et fourni ultérieurement ne va pas au-delà de la divulgation faite dans la demande telle que déposée, a été fournie.
- La déclaration, selon laquelle les informations enregistrées sous déchiffrable par ordinateur sont identiques à celles du listages des séquences Présenté par écrit, a été fournie.

**RAPPORT D'EXAMEN
PRÉLIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR99/02329

4. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- de la description, pages :
- des revendications, n°s :
- des dessins, feuilles :

5. Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

(Toute feuille de remplacement comportant des modifications de cette nature doit être indiquée au point 1 et annexée au présent rapport)

6. Observations complémentaires, le cas échéant :

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 1-16, 18 Non : Revendications 17, 19-39
Activité inventive	Oui : Revendications Non : Revendications 1-39
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-39 Non : Revendications

2. Citations et explications
voir feuille séparée

VII. Irrégularités dans la demande internationale

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :
voir feuille séparée

VIII. Observations relatives à la demande internationale

Les observations suivantes sont faites au sujet de la clarté des revendications, de la description et des dessins et de la question de savoir si les revendications se fondent entièrement sur la description :
voir feuille séparée

V. Déclaration motivée selon la règle 66.2(a)(ii) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Il est fait référence aux documents suivants:

D1: J. Mol. Biol.
Vol. 279, pages 1163-1175, 1998
D2: WO 92/19279
D3: US-A-5 627 036

2. D1 mentionne différents domaines de l'annexine I humaine, notamment les domaines D1 et D2, et leur expression individuelle dans E. coli. D1 décrit les procédés d'expression, d'isolation et de purification du domaine D2, ainsi que, notamment, des expériences de RMN après marquage radioactif du domaine D2 et solubilisation dans une solution de micelles (résumé; page 1165, colonne 1; page 1168, colonne 2, paragraphe 3; page 1172, colonne 2, dernier paragraphe à page 1173, colonne 2, dernier paragraphe).
L'annexine I humaine mentionnée dans D1 correspond à l'annexine I humaine de SEQ ID No:1 de la figure 6A de la présente application. Bien que D1 ne mentionne pas que la structure chimique qu'il décrit possède une affinité pour un phospholipide, au vu de D1 l'objet des revendications 17, 19, 20, 23-26, 31 et 33 n'est pas nouveau. En effet, l'élucidation de propriétés nouvelles (par exemple, l'affinité pour un phospholipide) d'un produit connu ne permet pas de restaurer la nouveauté de ce produit. Par conséquent, au vu de D1, les revendications 17, 19, 20, 23-26, 31 et 33 ne sont pas nouvelles.

Fonction

D2 mentionne la propriété des annexines de se lier aux phospholipides chargés négativement de manière calcio-dépendante. D1 décrit notamment l'annexine V humaine, qui montre une très forte affinité en présence de calcium pour les phospholipides tels phosphatidylsérine (PS), phosphatidylcholine (PC), acide phosphatidique (page 7, ligne 17 à page 8, ligne 15; page 15, ligne 21; page 17, lignes 9-14). D2 décrit la production de l'annexine V par clonage de son cDNA dans un vecteur d'expression (page 17, lignes 23 à page 18, ligne 7). D2 mentionne l'utilisation de l'annexine V pour cibler une thrombose *in vivo*, ainsi que

le marquage radioactif ou fluorescent de l'annexine (page 21, lignes 7-17; page 15, lignes 22-27). D2 décrit une structure chimique comprenant une annexine V ayant une affinité pour des phospholipides conjuguée à un agent thrombolytic. Cette structure est obtenue par clonage et expression dans *E. coli* (page 1, lignes 7-9; page 10, lignes 15-20; page 21, lignes 20-25; exemples II et III; revendications 1-3; revendication 31). D2 mentionne également l'utilisation de cette structure chimique dans des compositions thérapeutiques et selon des méthodes thérapeutiques pour le traitement de maladies résultant d'une thrombose (page 10, lignes 21-25; revendications 8-10). D2 décrit une séquence peptidique présente dans les différents domaines de l'annexine V ainsi que dans d'autres protéines ayant une affinité pour les phospholipides de manière calcio-dépendante. D2 suggère que cette séquence contient un site calcium et est responsable de la liaison aux phospholipides (page 18, ligne 15 à page 19, ligne 3).

L'annexine V humaine de D2 correspond à l'annexine de SEQ ID No:2 de la figure 6B de la présente application. Par conséquent, l'annexine V décrite dans D2 correspond à une structure chimique telle que définie dans la revendications 17, 19 et 20. L'annexine V est constituée des domaines D1 à D5, qui possèdent chacun la capacité connue de se lier aux phospholipides membranaires et au calcium. L'annexine V correspond donc également à un assemblage chimique tel que défini dans les revendications 23 et 24.

Par conséquent, au vu de D2, les revendications 17 et 19-33 ne sont pas nouvelles.

D3 décrit des annexines humaines, dont l'annexine I (lipocortin I) et l'annexine V (PAP-I), leur marquage avec une molécule fluorescente, un composé paramagnétique ou un radio-isotope, et leur utilisation pour différencier la phosphatidylsérine de la phosphatidylcholine (résumé; colonne 2, lignes 6-18 et 56-59). D3 mentionne également une trousse d'analyse et de détection comprenant ces annexines marquées capables de différencier la phosphatidylsérine de la phosphatidylcholine, pouvant être utilisée notamment pour la détection de microvésicules dans le sang (colonne 2, lignes 50-55; colonne 6, lignes 43-59, revendication 27).

Par conséquent, au vu de D3, les revendications 17, 19-24 et 31-39 ne sont pas nouvelles.

Les revendications 17 et 19-39 ne remplissent donc pas les conditions de l'Article 33(2) PCT.

3. L'objet des revendications 13-16 se différencie de D2 en ce que, dans D2, la région de la molécule d'annexine possédant un site calcium et ayant une affinité pour un phospholipide n'est que suggérée. La région des annexines ayant une affinité pour un phospholipide et présentant un site calcium étant suggérée dans D2, l'homme du métier n'aurait besoin de ne mettre en oeuvre aucune activité inventive pour vérifier l'implication de cette région dans la liaison à un phospholipide ainsi que la présence d'un site calcium. La simple mise en oeuvre de connaissances et de techniques connues dans l'état de la technique, comme par exemple, la mutation ponctuelle d'acides aminés, permet l'identification des acides aminés se liant à un phospholipide ainsi que de ceux participant au site calcium. L'homme du métier n'aurait donc besoin de ne mettre en oeuvre aucune activité inventive pour arriver à l'objet des revendications 13-16. Ces revendications ne sont pas inventives.

L'objet des revendications 1-12 et 18 se différencie en plus de D2, en ce que la structure chimique revendiquée est cyclique. La cyclisation de peptides présentant un site actif afin de leur conférer une stabilité supérieure est parfaitement connue de l'homme du métier et couramment pratiquée. L'homme du métier n'aurait donc besoin de ne mettre en oeuvre aucune activité inventive pour arriver également à l'objet des revendications 1-12 et 18. Par conséquent, ces revendications ne sont pas inventives.

Les revendications 1-16 et 18 ne remplissent donc pas les conditions de l'Article 33(3) PCT.

VII. Irrégularités dans la demande internationale

1. Une erreur de frappe à rendu la revendication 22 dépendante de la revendication 22 au lieu de la revendication 21.

VIII. Observations relatives à la demande internationale

1. Dans les revendications 1 et 2 la formulation "au moins une..." ne définit pas clairement l'étendue de la protection recherchée (Art. 6 PCT).
2. Les constructions (II) et (III) de la revendication 1 manquent totalement de clarté du fait que les espaces entre W¹ et W², et U¹ et U², ainsi que de la ligne en pointillé entre U² et W¹ présente dans la construction (III) ne sont pas définis (Art. 6 PCT).
3. L'objet des revendications 1, 2 et 18 n'est pas fondé sur la description. En effet, la description ne contient que des déclarations (pages 5, ligne 31 à page 8, ligne 17; page 9, ligne 9 à page 12, ligne 25; page 17, lignes 7-21), mais aucune base technique concernant des structures chimiques cycliques, telles que celles correspondant aux constructions (I), (II), (III), (IV), (V), (VI) et (VIII). En effet, la présente application décrit des structures linéaires, mais aucune structure circulaire du type de celles faisant l'objet des revendications 1, 2 et 18 n'a été produite. Dans ce contexte, il est à noter que l'objet pour lequel protection est recherché doit refléter l'état réel de la contribution technique de l'application. De plus, la présente application ne fait aucune référence aux distances entre les fonctions chimiques de liaison L1 à L6. Par conséquent, les revendications 1, 2 et 18 ne sont pas fondées sur la description (Art. 6-fondement PCT; voir également Directives C-III, 6.3).
4. La revendication 17 manque de clarté de part la formulation "elle comprend au moins une partie...". En effet, cette formulation vague et non définie, ne se réfère à aucune caractéristique technique et de ce fait sujette à interprétation, ne permet pas de définir clairement l'étendue de la protection recherchée (Art. 6 PCT).

13

structuraux pouvant comprendre un nombre de groupes cycliques suffisants pour assurer une rigidité compatible avec l'affinité au phospholipide.

Les distances mesurées lorsque les RL et les R_{Ca} sont des acides aminés, peuvent être mesurées entre les carbones α de ces acides aminés dans les structures (I) à (VI) précitées.

Ces structures peuvent être synthétisées par les procédés classiques de synthèse de la chimie organique et de la chimie des protéines, par recombinaison génétique, par génie génétique, etc...

Des exemples de telles structures sont données notamment dans "Discovery of Sequence-Selective Peptide Binding by Synthetic Receptors Using Encoded Combinatorial Libraries", W.C. Still, Acc. Chem. Res., 1996, 29, 155-163 et dans "Toward Synthetic Adrenaline Receptors : Strong, Selective and Biomimetic Recognition of Biologically Active Amino Alcohols by Bisphosphonate Receptors Molecules", T. Shrader, J. Org. Chem., 1998, 63, 264-272.

Selon l'invention, dans la structure de construction (IV), (V) ou (VI), L₁, L₂, L₃ et L₆ peuvent présenter chacune au moins une charge positive et donneuse de liaison hydrogène, et L₄, L₅, L_{Ca5}, L_{Ca4}, L_{Ca3}, L_{Ca2} et L_{Ca1} peuvent présenter chacune au moins une charge négative et acceptrice de liaison hydrogène.

Selon l'invention, dans la structure de construction (I), (II), (III), RL₁, RL₂, RL₃ et RL₆ peuvent être choisis indépendamment parmi Arg, Lys, Orn ; RL₄ peut être choisi indépendamment parmi Asp ou Glu ; et RL₅ peut être choisi indépendamment parmi Ser, Thr, Asp ou Glu, les

14

chaines latérales de ces acides aminés présentant les fonctions chimiques de liaison au phospholipides L1 à L6 respectivement.

Selon l'invention, dans la structure de construction (IV), (V) ou (VI), a ou a', b ou b', c, d, e, f, g, h, i, j, k peuvent être des peptides constitués d'acides aminés naturels ou non naturels, et RL1 à RL5 peuvent être des acides aminés choisis dans un ensemble comprenant Lys, Arg, Orn, Ser, Thr, Asp et 10 Glu, ou des analogues de ceux-ci, RL6 peut être Asp ou Glu ou des analogues de ceux-ci, L1 à L6 et LCa1 à LCa5 peuvent être les fonctions chargées des chaînes latérales desdits acides aminés, et RCa1 à RCa5 peuvent être des acides aminés naturels ou non naturels.

Selon l'invention, dans la structure de construction (IV), (V) ou (VI), les carbones RL1 à RL6 et RCa1 à RCa2 peuvent être disposés dans l'espace formé par a, b, c, d, e, f, g, h, i, j et k de manière à ce que les fonctions chimiques de liaisons L1 à L6 respectivement et les charges positives du calcium lorsque ce dernier est lié aux fonctions de liaison LCa1 à LCa5 soient directement accessibles au phospholipide.

Selon l'invention, dans la structure de construction (I), (II), (III), (IV), (V) ou (VI), au moins une partie de la plate-forme peut être une partie d'un domaine de l'annexine ou d'un domaine modifié de l'annexine, comprenant au moins un desdits résidus ligands RL1 à RL6 présentant lesdites fonctions L1 à L6 respectivement de liaison au phospholipide.

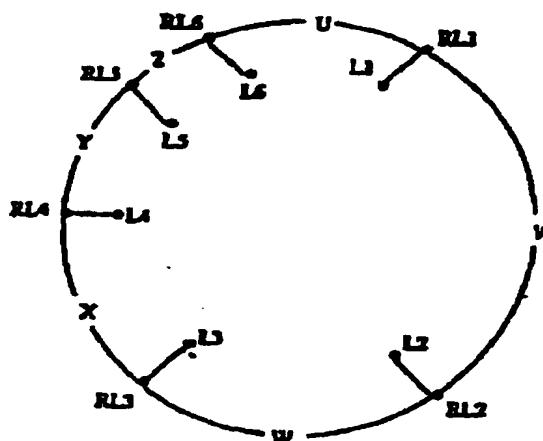
Selon l'invention, dans la structure de construction (I), (II), (III), (IV), (V) ou (VI), la plate-forme peut être une partie d'un domaine de l'annexine ou d'un domaine modifié de l'annexine.

B 13117.3 EE

FEUILLE MODIFIÉ

REVENDICATIONS

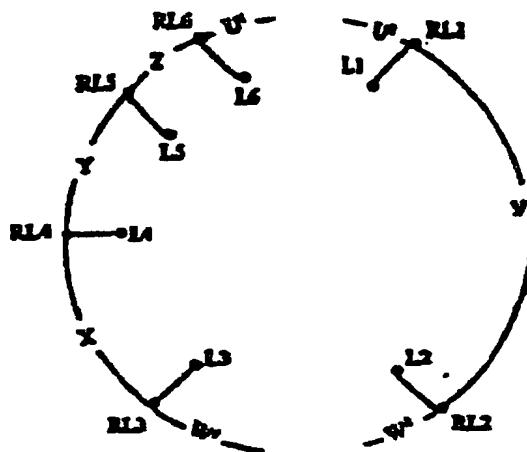
1. Structure chimique ayant une affinité pour un phospholipide, caractérisée en ce qu'elle est
 5 constituée d'au moins une plate-forme chimique U, V, W,
 X, Y, Z comportant six résidus RL1, RL2, RL3, RL4, RL5,
 RL6 supportant un ensemble de fonctions chimiques
 pouvant se lier au dit phospholipide appelées L1, L2,
 L3, L4, L5, L6 respectivement, ces fonctions chimiques
 10 L définissant l'affinité de ladite structure pour ledit
 phospholipide, ladite structure ayant une des
 constructions (I), (II) et (III) suivantes :



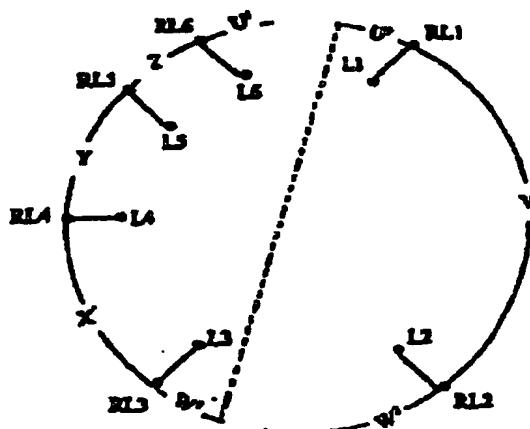
(I)

15

42



(II)



(III)

5

dans lesquelles U, U¹, U², V, W, W¹, W² X, Y, Z sont
indépendamment un acide aminé naturel ou non naturel,
un peptide constitué d'acides aminés naturels ou non
naturels, une chaîne carbonée, ou un ou des groupe(s)
cyclique(s) carboné(s),

10

B 13117.3 EE

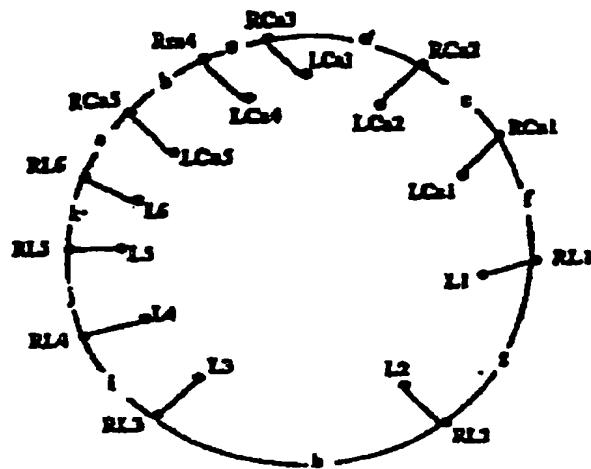
FEUILLE MODIFI E

dans lesquelles RL1 à RL6 sont choisis parmi des molécules présentant les fonctions chimiques de liaison L1 à L6 respectivement, lesdites fonctions chimiques comprenant soit au moins une charge positive et
5 donneuse de liaison hydrogène, soit au moins une charge négative et acceptrice de liaison hydrogène, et dans lesquelles U, U¹, U², V, W, X, Y et Z sont tels que RL6 et RL1 sont distants de 0,65 à 0,95 nm, L6 et L1 sont distants de 0,65 à 0,9 nm, RL1 et RL2 sont
10 distants de 0,45 à 0,65 nm, L1 et L2 sont distants de 0,4 à 0,55 nm, RL2 et RL3 sont distants de 0,5 à 1,05 nm, L2 et L3 sont distants de 0,4 à 0,6 nm, RL3 et RL4 sont distants de 0,5 à 0,8 nm, L3 et L4 sont distants de 0,35 à 0,5 nm, RL4 et RL5 sont distants de
15 0,45 à 0,75 nm, L4 et L5 sont distants de 0,4 à 0,55 nm, RL5 et RL6 sont distants de 0,4 à 1,2 nm, et L5 et L6 sont distants de 0,4 à 0,6 nm.

2. Structure chimique ayant une affinité pour un
20 phospholipide, caractérisée en ce qu'elle est constituée d'au moins une plate-forme chimique a, a', b, b', c, d, e, f, g, h, i, j, k, l comportant 11 résidus RL1, RL2, RL3, RL4, RL5, RL6, RCa1, RCa2, RCa3, RCa4 et RCa5 supportant un ensemble de fonctions
25 chimiques pouvant se lier audit phospholipide appelées L1, L2, L3, L4, L5, L6 respectivement, et un ensemble de fonctions chimiques de liaison à un atome de calcium appelées LCa1, LCa2, LCa3, LCa4, LCa5 respectivement, ces fonctions chimiques RL1 à RCa5 définissant
30 l'affinité de ladite structure pour ledit

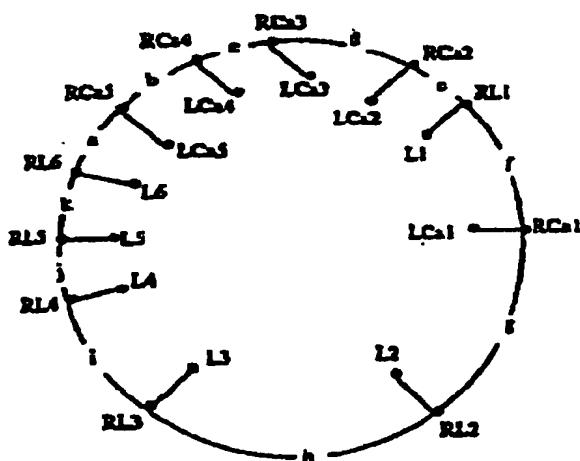
44

phospholipide, ladite structure ayant une des constructions (IV), (V) et (VI) suivantes :

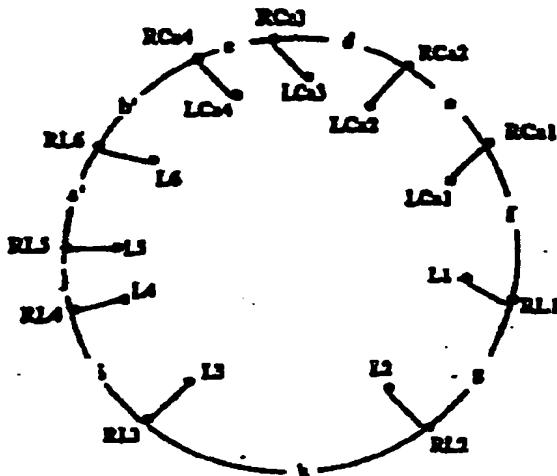


(IV)

5



(V)



(VI)

dans lesquelles a, a', b, b', c, d, e, f, g, h, i, j,
5 k, l sont indépendamment un acide aminé naturel ou non
naturel, un peptide constitué d'acides aminés naturels
ou non naturels, une chaîne carbonée, ou un ou des
groupe(s) cyclique(s) carboné(s),

10 dans lesquelles RL1 à RL6 et RCa1 à RCa5 sont choisis
parmi des molécules présentant les fonctions chimiques
de liaison L1 à L6 et LCa1 à LCa5 respectivement,
lesdites fonctions chimiques L1 à L6 comprenant soit au
moins une charge positive et donneuse de liaison
hydrogène, soit au moins une charge négative et
acceptrice de liaison hydrogène, lesdites fonctions
15 chimiques LCa1 à LCa5 comprenant un atome d'oxygène, et
dans lesquelles a dans les structures de construction
(IV) et (V) est tel que RL6 et RCa5 sont distants de 0
à 0,35 nm et tel que L6 et LCa5 sont distants de 0 à
0,3 nm, b dans les structures de construction (IV) et
20 (V) est tel que RCa5 et RCa4 sont distants de 0 à

0,35 nm et tel que LCa5 et LCa4 sont distants de 0,2 à 0,3 nm, b' dans la structure de construction (VI) est tel que RL6 et RCa4 sont distants de 0 à 0,35 nm et tel que L6 et LCa4 sont distants de 0 à 0,35 nm, c et d 5 sont tels que RCa4 et RCa3 sont distants de 0,5 à 0,9 nm, LCa4 et LCa3 sont distants de 0,2 à 0,4 nm, RCa3 et RCa2 sont distants de 0,35 à 0,6 nm, et LCa3 et LCa2 sont distants de 0,22 à 0,3 nm, e, f, g, dans les structures de construction (IV), (V), (VI) sont tels 10 que RL1 et RL2 sont distants de 0,45 à 0,65 nm, RCa1 à RCa2 sont distants de 0,4 à 0,55 nm, L1 et L2 sont distants de 0,4 à 0,55 nm et LCa1 et LCa2 sont distants de 0,3 à 0,4 nm, h, i, j et k sont tels que RL2 et RL3 sont distants de 0,5 à 1,05 nm, L2 et L3 sont distants 15 de 0,4 à 0,6 nm, RL3 et RL4 sont distants de 0,5 à 0,8 nm, L3 et L4 sont distants de 0,35 à 0,5 nm, RL4 et RL5 sont distants de 0,45 à 0,75 nm, L4 et L5 sont distants de 0,4 à 0,55 nm, RL5 et RL6 sont distants de 0,4 à 1,2 nm, et L5 et L6 sont distants de 0,4 à 0,6 nm, 20 a' dans la structure de construction (VI) est tel que RL5 et RL6 sont distants de 0,4 à 1,2 nm et tel que L5 et L6 sont distants de 0,4 à 0,6 nm, et b' dans la structure de construction (VI) est tel que RL6 et RCa4 sont distants de 0 à 0,35 nm et tel que L6 et LCa4 25 sont distants de 0 à 0,35 nm, la structure pouvant être soit fermée, soit ouverte en a et/ou en h.

3. Structure chimique selon la revendication 1. dans laquelle L1, L2, L3 et L6 présentent chacun au moins une charge positive et donneuse de liaisons 30

hydrogène, et L4 et L5 présentent chacun au moins une charge négative et acceptrice de liaison hydrogène.

4. Structure chimique selon la revendication 1,
5 dans laquelle U, V, W, X , Y et Z sont des peptides
constitués d'acides aminés naturels ou non naturels, et
RL1 à RL6 sont des acides aminés choisis dans un
ensemble comprenant Lys, Arg, Orn, Ser, Thr, Asp et
Glu, ou des analogues de ceux-ci, L1 à L6 étant les
10 fonctions chargées des chaînes latérales desdits acides
aminés.

5. Structure chimique selon la revendication 1,
dans laquelle RL1, RL2, RL3 et RL6 sont choisis
15 indépendamment parmi Arg, Lys, Orn,
dans laquelle RL4 est choisi indépendamment parmi Asp
ou Glu, et
dans laquelle RL5 est choisi indépendamment parmi Ser,
Thr, Asp ou Glu, les chaînes latérales de ces acides
20 aminés présentant les fonctions chimiques de liaison au
phospholipide L1 à L6 respectivement.

6. Structure chimique selon la revendication 3,
dans laquelle les fonctions chimiques de liaison L1 à
25 L6 sont directement accessibles au phospholipide chargé
négativement.

7. Structure chimique selon la revendication 1,
comportant en outre un site calcium où l'ion calcium
30 complexé par ce site constitue un des ligands du
phospholipide.

8. Structure chimique selon la revendication 2, dans laquelle a ou a', b ou b', c, d, e, f, g, h, i, j, k sont des peptides constitués d'acides aminés naturels ou non naturels, et RL1 à RL6 sont des acides aminés choisis dans un ensemble comprenant Lys, Arg, Orn, Ser, Thr, Asp et Glu, ou des analogues de ceux-ci, L1 à L6 et LCa1 à LCa5 étant les fonctions chargées des chaînes latérales desdits acides aminés, et RCa1 à RCa5 étant 10 des acides aminés naturels ou non naturels.

9. Structure chimique selon la revendication 8, dans laquelle les fonctions chimiques de liaisons L1 à L6 et les charges positives du calcium lorsqu'il est 15 lié aux fonctions de liaison LCa1 à LCa5 sont directement accessibles au phospholipide.

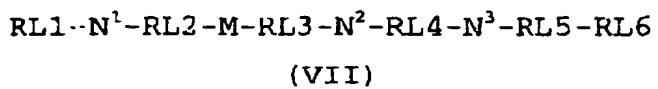
10. Structure chimique selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, dans laquelle la plate-forme est 20 une partie d'un domaine de l'annexine ou d'un domaine modifié de l'annexine, comprenant lesdits résidus ligands RL1 à RL6 présentant lesdites fonctions L1 à L6 respectivement.

25 11. Structure chimique selon la revendication 10, dans laquelle le domaine de l'annexine est choisi parmi le domaine 1 de l'annexine V présenté sur la figure 6b, le domaine 2 de l'annexine I présenté sur la figure 6a, le domaine 2 de l'annexine III présenté sur la figure 30 6c et le domaine 1 et 2 de l'annexine IV présentés sur la figure 6d.

12. Structure chimique selon la revendication 11, dans laquelle les résidus ligands RL1 à RL6 sont respectivement soit, les résidus Arg25, Lys29, Arg63, 5 Asp68, Ser71 et Glu 72 du domaine 1 de l'annexine V présenté sur la figure 6b, soit les résidus Arg124, Lys128, Arg162, Asp167, Ser170 et Asp171 du domaine 2 de l'annexine I présenté sur la figure 6a, soit les résidus Lys100, Lys104, Lys138, Asp143, Ser146 et 10 Glu147 du domaine 2 de l'annexine III présenté sur la figure 6c, soit les résidus Arg96, Lys101, Arg135, Asp140, Ser143 et Asp144 du domaine 2 de l'annexine IV présenté sur la figure 6d, soit les résidus Arg24, Lys28, Arg62, Asp67, Ser70 et Glu71 du domaine 1 de 15 l'annexine IV présenté sur la figure 6d.

13. Structure chimique ayant une affinité pour un phospholipide, caractérisée en ce qu'elle est constituée d'une molécule de formule (VII) suivante :

20



dans laquelle N¹ à N³ représentent chacun indépendamment 25 de 1 à 4 acides aminés choisis indépendamment, naturels ou non naturels, et dans laquelle M est un peptide constitué de 1 à 100 acides aminés naturels ou non naturels ;

dans laquelle RL₁, RL₂, RL₃ et RL₆ sont choisis indépendamment parmi Lys, Arg ou Orn ; RL₄ est choisi indépendamment parmi Asp ou Glu ; et RL₅ est choisi

indépendamment parmi Ser, Thr, Asp ou Glu, ladite structure étant linéaire ou cyclique.

14. Structure selon la revendication 13, dans
5 laquelle N¹ représente trois acides aminés, N² représente quatre acides aminés, et N³ représente deux acides aminés.

15. Structure selon la revendication 13 ou 14,
10 dans laquelle M est un peptide constitué de 33 acides aminés naturels ou non naturels.

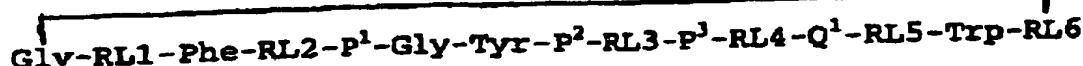
16. Structure selon la revendication 13, dans laquelle la molécule de formule (VII) est une séquence peptidique choisie parmi la séquence peptidique allant de Arg124 à Asp171 dans la séquence ID n°1 présentée sur la figure 6a, la séquence peptidique allant de Arg25 à Glu72 dans la séquence ID n°2 présentée sur la figure 6b, la séquence peptidique allant de Lys100 à Glu147 dans la séquence ID n°3 présentée sur la figure 6c, la séquence allant de Arg24 à Glu71 dans la séquence ID n°4 présentée sur la figure 6d, la séquence allant de Arg96 à Asp144 dans la séquence ID n°5 présentée sur la figure 6, ou une séquence modifiée de ces séquences pourvu que RL1, RL2, RL3 et RL6 soient choisis indépendamment parmi Lys, Arg ou Orn, RL4 soit choisi indépendamment parmi Asp ou Glu, et RL5 soit choisi indépendamment parmi Ser, Thr, Asp ou Glu.

p 15-16
de la
du 25/11

30 17. Structure chimique ayant une affinité pour un phospholipide, caractérisée en ce qu'elle comprend au

moins une partie d'une séquence peptidique choisie parmi la séquence ID n°1 présentée sur la figure 6a, la séquence ID n°2 présentée sur la figure 6b, la séquence ID n°3 présentée sur la figure 6c et les séquences ID 5 n°4 et ID n°5 présentées sur la figure 6d, ou une séquence modifiée de celle-ci.

18. Structure chimique ayant une affinité pour un phospholipide chargé négativement, caractérisée en ce 10 qu'elle est constituée d'une séquence peptidique cyclique de formule (VIII) suivante :



15 dans laquelle RL1 et RL6 sont choisis indépendamment parmi Lys, Orn et Arg ; RL2 et RL3 sont Arg ; RL4 et RL5 sont choisis indépendamment parmi Asp et Glu ; dans laquelle P¹, P² et P³ sont choisis indépendamment parmi Ser et Thr ; dans laquelle Q¹ est choisi parmi 20 Gly et Met.

19. Structure chimique selon l'une quelconque des revendications 13 à 17, comprenant en outre un site calcium où l'ion calcium complexé par ce site constitue 25 un des ligands du phospholipide chargé négativement.

20. Structure selon l'une quelconque des revendications précédentes, ladite structure ayant une affinité pour un phospholipide choisi parmi une 30 phosphatidylsérine, une phosphatidyléthanolamine, un

phosphatidylinositol, un acide phosphatidique, et un cardiolipide.

21. Assemblage chimique ayant une affinité pour un
5 phospholipide, caractérisé en ce qu'il comprend au moins deux structures chimiques définies dans les revendications 1 à 20, identiques ou différentes, lesdites structures étant liées.

10 22. Assemblage chimique selon la revendication 22, dans lequel au moins une des structures chimiques est une des structures chimiques définies dans les revendications 13 à 20.

15 23. Procédé de fabrication d'une structure chimique définie dans l'une quelconque des revendications 10 à 20 précédentes, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes de préparation d'un cDNA comprenant une séquence de base codant pour ladite 20 structure chimique, d'insertion du cDNA dans un vecteur d'expression approprié, de transformation d'une cellule hôte appropriée pour une réPLICATION du plasmide et la fabrication de ladite structure par traduction dudit cDNA.

25 24. Procédé selon la revendication 23, dans lequel le vecteur est un plasmide.

25. Procédé selon la revendication 23, dans lequel
30 le vecteur est le vecteur pGEX-2T.

26. Procédé selon la revendication 23, 24 ou 25, dans lequel la cellule hôte appropriée est *E. Coli*.

27. Utilisation d'une structure chimique telle que 5 définie dans les revendications 1 à 20 pour préparer un médicament.

28. Utilisation d'un assemblage chimique tel que 10 défini dans la revendication 21 ou 22 pour préparer un médicament.

29. Utilisation selon la revendication 27 ou 28, dans laquelle le médicament est choisi parmi un 15 médicament destiné au traitement d'une thrombose, un médicament destiné au traitement d'une tumeur, un médicament ayant une action anti-inflammatoire.

30. Utilisation d'une structure telle que définie 20 dans les revendications 1 à 19 pour la fabrication d'un matériau de recouvrement d'un biomatériau thrombogène.

31. Composé de marquage caractérisé en ce qu'il comprend une structure telle que définie dans les 25 revendications 1 à 20 couplée à une molécule de marquage.

32. Composé de marquage caractérisé en ce qu'il comprend un assemblage tel que défini dans la 30 revendication 21 ou 22 couplé à une molécule de marquage.

33. Composé selon la revendication 31 ou 32 dans lequel la molécule de marquage est choisie parmi une molécule fluorescente, le complexe avidine-biotine, un radioélément, et un composé paramagnétique.

5

34. Trousse de diagnostic comprenant un composé selon l'une quelconque des revendications 31 à 32.

10 35. Trousse de diagnostic selon la revendication 34, comprenant en outre un réactif adéquat permettant de détecter ladite molécule de marquage.

15 36. Trousse d'analyse et de détection de charges négatives à la surface de cellules, caractérisée en ce qu'elle comprend une structure selon l'une quelconque des revendications 1 à 20 couplée à un marqueur.

20 37. Trousse d'analyse et de détection de charges négatives à la surface de cellules, caractérisée en ce qu'elle comprend un assemblage selon la revendication 21 ou 22 couplé à un marqueur.

25 38. Trousse d'analyse et de détection de microvésicules dans le sang, caractérisée en ce qu'elle comprend une structure selon l'une quelconque des revendications 1 à 20 couplée à un marqueur.

30 39. Trousse d'analyse et de détection de microvésicules dans le sang, caractérisée en ce qu'elle comprend un assemblage selon la revendication 21 ou 22 couplé à un marqueur.